

ผลของความดันสูงต่อระบบชีวภาพ
Effect of High Pressure on Biological System

ธิติมา จันทโกศล¹

Thitima Jantakoson

การใช้ความดันสูงเป็นเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่ไม่ได้ใช้ความร้อน โดยอาหารจะได้รับความดันสูงประมาณ 100-1,000 เมกะปาสกาล (Megapascal, MPa) (Cheftel และ Culioli, 1997) และสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปอาหารได้ทั้งในสถานะที่เป็นของแข็งและของเหลว อาหารที่มีการบรรจุในภาชนะบรรจุหรือไม้กั้นได้ อุณหภูมิในระหว่างการแปรรูปสามารถใช้ได้ทั้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จนถึงอุณหภูมิมากกว่า 100 องศาเซลเซียส (Farkas และ Hoover, 2000) ระบบของช่องอัดความดัน (pressure vessel) จะมีการออกแบบเป็นพิเศษเพื่อให้มีความปลอดภัยในขณะที่ทำการอัดความดัน (Farkas และ Hoover, 2000) การใช้ความดันสูงใช้เวลาในการผลิตสั้นมาก คืออยู่ในช่วง 2-30 นาที (พันธิจิต พัฒโนภาย, 2541) ขณะที่การใช้ความร้อนมีผลทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ และเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสในระหว่างการแปรรูปได้ (Fellows, 1990)

โดยทั่วไปได้มีการนำเทคโนโลยีความดันสูงมาใช้ในอุตสาหกรรมพวกเซรามิก ซูเปอร์อัลลอยด์ การทำเพชรเทียม (Cheftel และ Culioli, 1997) และพบว่าการใช้ความดันสูงได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านชีวเคมีและทางอาหาร โดยในปี 1899 นักชีวเคมีชาวอเมริกันชื่อ Bert Hite ได้ทำการทดลองให้ความดันที่ระดับ 700 เมกะปาสกาล ที่อุณหภูมิห้องแก่น้ำนมพบว่าสามารถลดจำนวนปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมจาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เหลือ 10^1 ถึง 10^2 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (พันธิจิต พัฒโนภาย, 2541) เทคโนโลยีดังกล่าวมีการพัฒนาขึ้นในประเทศญี่ปุ่นและเป็นเทคโนโลยีที่กำลังเป็นที่นิยมในยุโรปในขณะนี้ อาจเรียกชื่ออีกอย่างว่า พาสเจอร์ไรเซชันแบบเย็น (Cold Pasteurization) (พันธิจิต พัฒโนภาย, 2541)

¹โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย

ราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Food Science and Technology Program, Faculty of Agricultural Technology, Songkhla

Rajabhat University, Muang, Songkhla 90000 Thailand.

ความดันสูงมีผลต่อองค์ประกอบของอาหาร อัตราการเกิดปฏิกิริยา ความสามารถในการผ่านเมมเบรน และการเปลี่ยนแปลงเฟสของระบบอาหาร (Knorr, 1999) การอัดความดันจะเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอทั่วทุกจุดของอาหาร โดยจะไม่ขึ้นกับรูปร่าง ขนาดและองค์ประกอบของอาหาร ดังนั้น ขนาด รูปร่าง และองค์ประกอบภาชนะบรรจุก็จะไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการใช้ความดันสูง (Farkas และ Hoover, 2000) ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบหลักที่ดีกว่ากระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน ซึ่งมีข้อจำกัดด้วยขนาดและรูปร่างของอาหาร เช่น การลดขนาด ทำให้เพิ่มความสามารถในการถ่ายโอนความร้อนและการถ่ายโอนมวล แต่มีผลต่อการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ การแปรรูปที่ไม่ขึ้นกับรูปร่างของอาหารไม่เพียงแต่จะช่วยลดความรุนแรงของกระบวนการผลิตอาหารอีกทั้งยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีด้วย (Knorr, 1999)

ความดันสูงสามารถใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือกิจกรรมของเอนไซม์ในอาหารได้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่า การแปรรูปได้ที่สภาวะอุณหภูมิต่ำจะสามารถช่วยคงคุณภาพด้านโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของวัตถุดิบ (Knorr, 1999) เช่น การใช้ความดันที่ระดับ 400 เมกกะปาสคาล นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในกระบวนการลวกมันฝรั่งขนาด 6 ลูกบาศก์เซนติเมตร พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณวิตามินซีหลงเหลืออยู่ร้อยละ 85 และมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แข็งกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการลวกด้วยการใช้น้ำร้อนหรือการใช้ไอน้ำร้อน (Eshtiaghi และ Knorr, 1993)

นอกจากนี้ความดันสูงยังมีความปลอดภัยต่อสภาวะแวดล้อมและเป็นเทคโนโลยีที่ไม่เกิดขยะ ส่วนกระบวนการให้ความร้อนทำให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการใช้ความดันสูงอาจยับยั้งกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ที่อยู่ในอาหารได้ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นอาจใช้ความดันสูงร่วมกับสภาวะอื่น เช่น ความร้อน เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้อย่างสมบูรณ์ (Knorr, 1999)

ผลของความดันสูงต่อโครงสร้างและพันธะภายในโมเลกุลของโปรตีน

ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างโปรตีน โดยในเบื้องต้นจะสัมพันธ์กับการแตกออกของแรงกระทำที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ที่อยู่ในโมเลกุลของโปรตีนและภายหลังจะเกิดการสร้างพันธะขึ้นมาใหม่ภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลของโปรตีน อาจกล่าวได้ว่าความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิ (Messens และคณะ, 1997) ความคงตัวของพันธะต่างๆในโครงสร้างของโปรตีนแสดงดังตารางที่ 1

ความดันสูงจะมีผลต่อพฤติกรรมของระบบชีวภาพซึ่งจะเป็นไปตามกฎของ Le Chatelier's กล่าวคือ ความดันจะทำให้เกิดการเลื่อนสมดุลของปฏิกิริยา โดยความดันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรในเชิงลบ ($-\Delta V$) ความดันสนับสนุนให้ปฏิกิริยาเลื่อนสมดุลไปข้างหน้าเมื่อมีการลดลงของปริมาตร และจะเกิดมากขึ้นเมื่อเพิ่มความดัน (Mozhaev และคณะ, 1994)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของอันตรกิริยาที่ทำให้เกิดความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิ

Type of interaction	Energy (Kj / mol)	Functional groups involved	Destabilizing conditions	Stabilizing conditions
Covalent and semi-covalent	330-400 (peptide bond)	NH-CO-(peptide bond)	Reducing agent :	Increased reactivity of SH groups
	200 (S-S bond)	Cystine S-S	β -mercaptoethanol, dithiothreitol(S-S bonds)	above pH 7
Electrostatic	42-84	Amino acid residues with carboxyl COO ⁻ (e.g. Asp, Glu) and amino NH ₄ ⁺ (e.g. His, Arg, Lys) groups	Salt solutions, high or low pH values, pressure	
Hydrogen bonds	8-40	H atom of OH or NH (proton donor) group Share with CO (proton acceptor) group, e.g. $\begin{array}{c} \text{-N-H} \cdots \text{O=C} \\ \text{-O-H} \cdots \text{O=C} \end{array}$	Solutions with guanidine HCl, urea or detergents, heating	Cooling
Hydrophobic	4-12	Amino acid residues with aliphatic (e.g. Leu, Ile, Val) or aromatic (e.g. Phe, Tyr) side chains	Detergents, pressure (aliphatic side chains), heating at high temperatures	Moderate heating, pressure (stacking of aromatic side chains)
Van der Waals	1-9	Permanent, induced and instantaneous dipoles		

ที่มา : Messens และคณะ (1997)

ความดันสูงจะมีผลต่อแรงกระทำระหว่างโมเลกุลแบบไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ โดยแรงกระทำแต่ละชนิดจะมีพฤติกรรมแตกต่างกันภายใต้ความดันสูง แรงกระทำระหว่างประจุ (Electrostatic) ของหมู่ที่มีประจุเป็นแรงกระทำที่เกิดระหว่างกรดนิวคลีอิกและโปรตีน อาจพบการลดลงของปริมาตร เช่นการจับตัวกันแน่นระหว่างขั้วของโมเลกุลน้ำ นอกจากนี้การสร้างแรงกระทำระหว่างประจุจะเกิดจากการดึงน้ำจากอะตอมที่มีประจุ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาตรได้ ดังนั้นจะไม่คงตัวที่สภาวะความดัน การสร้างพันธะไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) ระหว่างหมู่อะลิฟาติก (aliphatic) เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาตรและถูกทำลายเมื่อมีการเพิ่มความดัน พันธะไฮโดรโฟบิกจะมีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนตติยภูมิและจตุรภูมิ แต่ถ้าเกิดแรงกระทำกับวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ปริมาตรจะลดลงเล็กน้อย (Mozhaev *et al.*, 1994) โปรตีนโอลิโกเมอร์สามารถแยกออกเป็นหน่วยย่อยเมื่อมีการให้ความดันระดับปานกลาง (น้อยกว่า 150 เมกกะปาสกาล) โดยปกติแล้วจะเกิดขึ้นเมื่อมีการลดลงของปริมาตรมากกว่า 500 มิลลิลิตรต่อโมล แต่อย่างไรก็ตามโปรตีนโครงสร้างจตุรภูมิอาจเกิดโครงสร้างเชิงซ้อนได้อีกครั้ง โดยการเกิดการแยกตัวของโปรตีนตามด้วยการรวมกลุ่มของโปรตีนหน่วยย่อย เมื่อมีการให้ความดันเพิ่มขึ้นพันธะไฮโดรเจนอาจถูกสร้างขึ้นได้ภายใต้สภาวะความดันเมื่อมีการลดลงของปริมาตรเพียงเล็กน้อย พันธะไฮโดรเจนจะมีความคงตัวต่อความดันสูงทำให้สามารถรักษาโครงสร้างทุติยภูมิได้ แต่อย่างไรก็ตามพันธะไฮโดรเจนอาจถูกทำลายได้เมื่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรเข้าใกล้ศูนย์ ในโครงสร้างเกลียวคู่ (double helix) ของ DNA จะคงตัวเมื่อให้ความดันและไม่เกิดการคลายตัวจนกระทั่งให้ความดันมากกว่า 1000 เมกกะปาสกาล ส่วนพันธะโควาเลนต์ของสารชีวโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น เปปไทด์ ลิพิด แซคคาไรด์ ที่เป็นโครงสร้างปฐมภูมิของสารชีวโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และ โพลีแซคคาไรด์ จะไม่ถูกทำลายด้วยความดันที่ระดับ 1000-2000 เมกกะปาสกาล เนื่องจากพันธะโควาเลนต์มีความยืดหยุ่นได้เล็กน้อยจึงทนต่อการบีบอัด พันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญที่ถูกสร้างขึ้นภายใต้สภาวะความดัน ซึ่งทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (aggregation) และการเกิดเจลของโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สภาวะความเป็นกรดต่ำเป็นกลางและเป็นด่าง การเพิ่มขึ้นของการรวมกลุ่มกันของโปรตีนอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของหมู่ซัลไฟไฮดริลซึ่งเป็นผลมาจากการคลายตัวของโครงสร้างโปรตีนที่สภาวะความเป็นกรดต่ำ ดังกล่าว (Messens และคณะ, 1997)

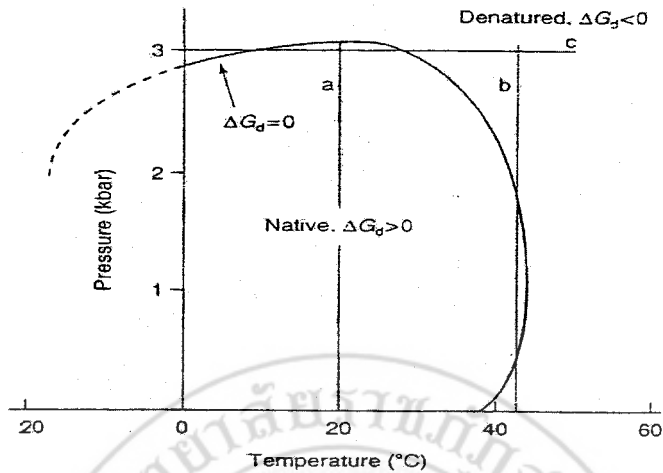
ผลของความดันสูงต่อการเสถียรภาพของโปรตีน

ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีน โดยสามารถทำให้เกิดการเสถียรภาพ (Denaturation) เกิดการรวมกลุ่มกันของโปรตีน (Aggregation) หรือเกิดเจล (Gelation) ซึ่งขึ้นอยู่กับระบบของโปรตีน ได้แก่ ชนิดของโปรตีน ความเป็นกรดต่ำ ความแรงของไอออน นอกจากนี้ยังขึ้นกับความดันและอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความดันด้วย (Messens และคณะ, 1997) ผล

ของความดันต่อโปรตีนจะเกิดขึ้นแบบผันกลับได้ระหว่างความดัน 100–200 เมกกะปาสคาล (Cheftel และ Culioli, 1997) ขณะที่ความดันมากกว่า 300 เมกกะปาสคาล ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนอย่างสมบูรณ์ การเสียสภาพของโปรตีนอันเนื่องมาจากอุณหภูมิจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้นมากกว่า 100 เมกกะปาสคาล และการเพิ่มขึ้นของความดันระดับหนึ่งจะช่วยลดการเสียสภาพของโปรตีนอันเนื่องมาจากความร้อน (Leadley และ Williams, 1997)

ที่ระดับความดัน 100–200 เมกกะปาสคาล โปรตีนโอลิโกเมอร์ริก (Oligomeric) และโปรตีนที่ประกอบด้วยหลายหน่วยย่อย (Multiprotein) จะเกิดการแยกตัวกัน ซึ่งเป็นผลมาจากความดันมีผลทำลายพันธะระหว่างโปรตีนหน่วยย่อย (subunit) และเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาตรในเชิงลบเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไอออนิกที่เกิดระหว่างโปรตีนหน่วยย่อย หลังจากมีการแยกตัวด้วยความดันแล้ว โปรตีนหน่วยย่อยอาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปและเกิดการคลายตัวไปบางส่วน เมื่อมีการปลดปล่อยความดัน โปรตีนโอลิโกเมอร์ริกมีแนวโน้มที่จะกลับมาขจัดตัวอีกครั้งอย่างช้าๆ โปรตีนที่มีการเสียสภาพด้วยความดันจะมีการอัดตัวกันแน่นกว่าโปรตีนที่ทำให้เสียสภาพด้วยอุณหภูมิหรือสารเคมี (Mozhaev และคณะ, 1994)

Mozhaev และคณะ (1994) กล่าวว่าความดันและอุณหภูมิเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน โดยทั่วไปการเสียสภาพของโปรตีนจะเกิดขึ้นที่สภาวะบรรยากาศและอุณหภูมิสูง ซึ่งเกิดการเสียสภาพแบบผันกลับไม่ได้ ความดันทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพได้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นไป จากภาพที่ 1 บริเวณเส้นกราฟ (Contour line) เป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นของโปรตีนตามธรรมชาติและโปรตีนที่เสียสภาพที่สมดุลกัน ($\Delta G_d = 0$) ส่วนบริเวณใต้กราฟเป็นบริเวณที่โปรตีนตามธรรมชาติมีความคงตัว ($\Delta G_d > 0$) และเหนือเส้นกราฟ เป็นบริเวณที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ($\Delta G_d < 0$) เส้น c เป็นบริเวณที่มีความดันเท่ากัน (isobaric) ที่สภาวะอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มความดันมากกว่า 3 กิโลบาร์ (300 เมกกะปาสคาล) (เส้น a) โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพ ส่วนที่สภาวะอุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส (เส้น b) โปรตีนจะแสดงพฤติกรรมเชิงซ้อน โดยที่สภาวะความดันบรรยากาศปกติ โปรตีนส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโปรตีนที่เสียสภาพ และเมื่อความดันมากกว่า 0.5 กิโลบาร์ (50 เมกกะปาสคาล) ทำให้โปรตีนเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปของโปรตีนตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้โปรตีนมีความคงตัวต่อการเสียสภาพด้วยความร้อนที่สภาวะความดันสูงและอาจทำให้เอนไซม์ที่สามารถยับยั้งด้วยความร้อนยังคงมีกิจกรรมเหลืออยู่ เมื่อให้ความดันมากกว่า 2 กิโลบาร์ (200 เมกกะปาสคาล) โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพอีกครั้ง ในทำนองเดียวกันอาจพบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในลักษณะเดียวกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิและกำหนดให้ความดันคงที่ที่ระดับ 3 กิโลบาร์ (300 เมกกะปาสคาล) (เส้น c) ทั้งนี้กลไกการเสียสภาพของโปรตีนจะเกิดขึ้นแบบผันกลับได้หรือไม่สามารถผันกลับได้ ขึ้นกับการเลือกใช้ความดันและอุณหภูมิที่เหมาะสม (Mozhaev และคณะ, 1994)



ภาพที่ 1 ไดอะแกรมการเปลี่ยนแปลงความดันและอุณหภูมิของ chymotrypsinogen A (ΔG_d คือ พลังงานอิสระของการสูญเสียสภาพ)

ที่มา : Mozhaev และคณะ (1994)

ผลของความดันสูงต่อการเกิดเจล

การเกิดเจลเป็นผลมาจากการเสียสภาพของโปรตีน ทำให้โปรตีนสูญเสียความคงตัว ทำให้เกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์และแรงกระทำที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ พันธะไดซัลไฟด์ และพันธะไฮโดรโฟบิก Heremans และ Heremans (1989) ได้อธิบายกลไกการเกิดเจลด้วยความดันว่า ในระยะแรกพันธะไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นพันธะที่ทำให้โครงสร้างโปรตีนธรรมชาติมีความคงตัวจะถูกทำลายด้วยความดัน เนื่องจากการสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาตร เมื่อมีการให้ความดันสูงขึ้นจะทำลายพันธะนี้มากขึ้นโดยทำให้เกิดการเปิดออกของโครงสร้างโปรตีน ทำให้หมู่ที่ไม่ชอบน้ำถูกปลดปล่อยออกมาในสารละลาย การสูญเสียความคงตัวของโปรตีนเนื่องจากความดันทำให้เกิดการลดลงของปริมาตรจากการเกิด electrostriction รอบๆ หมู่ที่มีประจุ การเรียงตัวของน้ำรอบๆ หมู่ที่ไม่มีขั้วและการละลายของหมู่ที่มีขั้วโดยอาศัยพันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้ Gilleland และคณะ (1997) คาดว่าการลดความดันลงจะทำให้หมู่ที่ไม่ชอบน้ำถูกปลดปล่อยออกมาในสารละลายได้น้อยลง การเกิดแรงกระทำระหว่างโปรตีน ได้แก่ พันธะไดซัลไฟด์จะเกิดการสร้างภายใต้ความดัน และพันธะไฮโดรเจนถูกสร้างขึ้นเมื่อมีการลดความดัน และเกิดการสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้เกิดเจลได้เมื่อมีความเข้มข้นของโปรตีนที่เพียงพอ การจัดเรียงตัวของโมเลกุลของน้ำรอบกรดอะมิโนในเจลที่เกิดจากความดันทำให้เกิดเป็นลักษณะเป็นเงามัน (glossy) และเจลมีลักษณะโปร่งใส (transparent) มีคุณสมบัติในการอุ้ม

น้ำได้ดี มีความแน่นเนื้อ นุ่มแต่มีความเหนียวและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จากการใช้ความร้อน (Cheftel และ Culioli, 1997)

เอกสารอ้างอิง

- พันธ์จิต พัฒโนภาย. 2541. เทคโนโลยีอาหารแห่งอนาคต high pressure processing. ว. สถาบันอาหาร. 1: 42.
- Cheftel, J.C., and Culioli, J. 1997. Effect of high pressure on meat: a review. *Meat Sci.* 46: 211-236.
- Eshtiaghi, M.N., and Knorr, D. 1993. Potato cubes response to water blanching and high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.* 58: 1371-1374.
- Farkas, D.C., and Hoover, D.G. 2000. High pressure processing. *J. Food Sci-supplement : Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies.* 47-64.
- Fellows, P. 1990. *Food Processing Technology Principles and Practice.* Ellis Horwood. London. 238.
- Gilleland, G.M., Lanier, T.C., and Hamann, D.D. 1997. Covalent bonding in pressure – induced fish protein gels. *J. Food Sci.* 62: 523-733.
- Heremans, L., and Heremans, K. 1989. Raman spectroscopic study of the changes in secondary structure of chymotrypsin : effect of pH and pressure on the salt bridge. *Biochem. Biophys. Acta.* 999: 192-197.
- Knorr, D. 1999. Process assessment of high-pressure processing of foods: an overview. *In Processing Foods (Quality Optimization and Process Assessment).* (Fernanda, A.R., and Jorge, C.O., eds.) p. 249-267. Plenum Press. New York.
- Leadley, C.E., and Williams, A. 1997. High pressure processing of food and drink – an overview of recent developments and future potential. *New Technologies Bulletin.* Campden and Chorleywood Food Research Association. No. 14: 1-25.
- Messens, W., Camp, J.V., and Huyghebaert, A. 1997. The use of high pressure to modify the functionality of food protein : a review. *Trends Food Sci. Technol.* 8: 107-112.
- Mozhaev, V.V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P., and Claude, B. 1994. Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications. *TIBTECH.* Dec. 12: 493-501.